Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr.med. H.-A. Kühn

---

# DIE DIAMINOOXIDASE (HISTAMINASE) UND IHRE HEPARINABHÄNGIGE KONZENTRATIONSKINETIK BEI ERKRANKUNGEN DES ALLERGISCHEN FORMENKREISES

Inaugural-Dissertation
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Wolfgang Gaubitz
aus Nürnberg

Würzburg, den 30. Juli 1980

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr.med. H.-A. Kühn

---

# DIE DIAMINOOXIDASE (HISTAMINASE) UND IHRE HEPARINABHÄNGIGE KONZENTRATIONSKINETIK BEI ERKRANKUNGEN DES ALLERGISCHEN FORMENKREISES

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Wolfgang Gaubitz

aus Nürnberg

Würzburg, den 30. Juli 1980

| | |
|---|---|
| Referent: | Priv.Doz. Dr.med. V. Gäng |
| Korreferent: | Professor Dr.med. H.-A. Kühn |
| Dekan: | Professor Dr.med. K.-H. Wulf |

Tag der mündlichen Prüfung: 3.11.1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543512_0038

# I N H A L T S V E R Z E I C H N I S


Seite

ERLÄUTERUNGEN DER ABKÜRZUNGEN

I. E I N L E I T U N G 1

1. ZUR BIOCHEMIE DER HISTAMINASE 1

Charakterisierung 1

Vorkommen 1

2. BEDEUTUNG DER DAO 2

3. FREISETZUNG DER DAO DURCH HEPARIN 3

4. IMMUNPATHOLOGISCHE REAKTIONSFORMEN 6

Immunpathologische Reaktionsformen, bei denen dem Histamin als Mediatorsubstanz der Entzündung eine Bedeutung zukommt 8

II. F R A G E S T E L L U N G 11

1. VERÄNDERUNGEN DES DAO-GEHALTES BEI VERSCHIEDENEN KRANKHEITSBILDERN 11

2. VERÄNDERUNGEN DES DAO-GEHALTES IM SERUM BEIM ANAPHYLAKTISCHEN SCHOCK 11

Positive Einflüsse der Heparingabe beim anaphylaktischen Schock im Tierexperiment 11

III. M A T E R I A L 14

1. KONTROLLGRUPPEN FÜR DAO UND PHD 15

2. BESTIMMUNGSMETHODEN UND VERSUCHSANSÄTZE 17

IV. E R G E B N I S S E 24

INTERPRETATION UND MÖGLICHE KLINISCHE BEDEUTUNG DIESER BEFUNDE 25

V. Z U S A M M E N F A S S U N G 28

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S I - V

## ERLÄUTERUNG DER ABKÜRZUNGEN

| | |
|---|---|
| cpm | counts per minute |
| DAO | Diaminooxidase |
| E.C.N. | Enzyme Commission Number |
| mU/ml | Millieinheiten pro Milliliter |
| NADH | reduziertes Nikotinamidadenindinukleotid |
| PHD | Postheparin-Diaminooxidase (Histaminase) |
| t | Zeit |

# I. E I N L E I T U N G

## 1. ZUR BIOCHEMIE DER HISTAMINASE

### Charakterisierung:

Aufgrund der Fähigkeit von Lungengewebe, Histamin zu inaktivieren, beschrieb BEST (4) ein Enzym, das Histaminase genannt wurde. ZELLER (50) wies 1938 nach, daß das Enzym der Schweineniere neben Histamin auch aliphatische Diamine wie Putrescin, Cadaverin und Agmatin oxidativ desaminiert. Er nannte das Enzym deshalb Diaminooxidase (E.C.N.1.4.3.6). Histamin kann hierbei als ringförmiges Diamin aufgefaßt werden. Die Frage, ob Diaminooxidase und Histaminase identisch sind, war lange Zeit umstritten. KAPELLER-ADLER (21) glaubte an das Vorliegen verschiedener Aminooxidasen mit hoher Substratspezifität, z.B. eine Putrescinase, Histaminase oder Cadaverinase. Andere Autoren (52) hingegen waren der Meinung, dies seien Eigenschaften ein- und desselben Enzyms. Einigkeit besteht inzwischen insofern, daß Diaminooxidasen verschiedener Herkunft nicht identisch sind, sondern eine Gruppe von homologen Enzymen mit teilweise sehr unterschiedlicher Substratspezifität darstellen (30). Die synonyme Verwendung der Bezeichnungen Diaminooxidase und Histaminase (DAO) hat sich inzwischen weitgehend durchgesetzt.

### Vorkommen:

Diaminooxidasen sind in der Natur weit verbreitet. Ihr Vorkommen wurde bei Bakterien (46), Pilzen (46) und höheren Pflanzen nachgewiesen. Bei Säugetieren und beim Menschen werden unterschiedliche Enzymkonzentrationen

gefunden (51). Hohe Aktivitäten des Enzyms wurden in der Leber (41), der Darmschleimhaut (24), in der Niere (28), in der Lunge (54, 45) und in der Darmlymphe (6, 14) gefunden. Die Plazenta verschiedener Spezies, besonders jedoch die des Menschen, weist ebenfalls hohe Diaminooxidasekonzentrationen auf (10, 22, 51), wie diese auch im Plasma der Schwangeren stark zunimmt (5).

Die DAO ist ein lösliches Enzym, das hauptsächlich im Zytoplasma der Zelle lokalisiert ist (21). Da das Enzym nach Homogenisierung von Organen sehr gut löslich ist und sich außerdem durch eine hohe Stabilität auszeichnet, war das Enzym relativ leicht zu reinigen. Aus Schweineniere konnte die DAO inzwischen in kristalliner Form angereichert werden (32).

## 2. BEDEUTUNG DER DAO

Eine wesentliche Funktion der DAO besteht in der Unterbindung der Wirkung von exogenem Histamin, das möglicherweise über den Darmtrakt oder durch Histaminbildung des Foeten in den Organismus gelangen könnte, oder im Abbau von endogenem Histamin, das infolge einer Mastzelldegranulation in die Blutbahn gerät. In Organen, deren Funktion unmittelbar mit dem Umsatz von Histamin verknüpft ist, z.B. in der Magenschleimhaut (23, 24), fehlt die DAO. Hier katabolisiert die Histamin-N-Methyltransferase das Histamin, ein Enzym, das darauf spezialisiert zu sein scheint, die Histaminkonzentration am Wirkort zu steuern. Anders ausgedrückt besteht die Aufgabe der DAO offenbar in der Inaktivierung von nicht oder nicht mehr benötigtem, möglicherweise für den Organismus gefährlichem Histamin, während die N-Methyltransferase die funktionell benötigte Histaminkonzentration am Wirkort begrenzt.

In der Geburtshilfe kommt der DAO darüber hinaus eine weitere, nicht unwichtige Bedeutung zu.
Die während der Schwangerschaft stark erhöhten DAO-Spiegel sind auf eine erhöhte Produktion dieses Enzyms in den Deciduazellen der Placenta zurückzuführen. Plasma-DAO-Spiegelbestimmungen eignen sich deshalb gut zur Überprüfung der fetomaternalen Einheit (43) und sind deshalb als Suchtest bei Verdacht auf Abortus imminens, Mola hydaditosa oder Chorion-Carcinom geeignet.

## 3. FREISETZUNG DER DAO DURCH HEPARIN

Im Jahre 1966 wurde von HANSSON et al. ( 19 ) zum ersten Mal berichtet, daß die DAO durch Heparin in beträchtlichen Mengen freigesetzt werden kann.

HANSSON stellte damals fest, daß bei Belastung eines gesunden Menschen mit 200 Einheiten Heparin pro kg Körpergewicht i.v. bereits nach 20 sec. ein gut meßbarer Anstieg der DAO im Serum erfolgte. Bei der genannten Heparindosis erfolgte bis zu etwa 90 min. ein weiterer Anstieg des Enzyms auf ein Maximum, das - bezogen auf den Basalwert - etwa 2 - 3 Zehnerpotenzen höher liegt.

Wenn man den zeitlichen Verlauf des DAO-Gehaltes im Serum nach genannter Heparinbelastung aufzeichnet, läßt sich eine zweigipfelige Kurve erkennen (siehe Abb. 1 ).

HANSSON fand weiter, daß sich der Anstieg zum zweiten Maximum verhindern läßt, wenn man den DAO-haltigen Lymphstrom, der aus dem Darm kommt, am Angulus venosus blockiert (siehe Abb. 1 , gestrichelte Kurve). Dieser Befund wurde so interpretiert, daß das erste Maximum auf die Ausschüttung des Enzyms aus der Leber und das zweite Maximum auf die Ausschüttung des Enzyms aus dem Dünndarm zurückzuführen ist. Diese Vermutung konnte

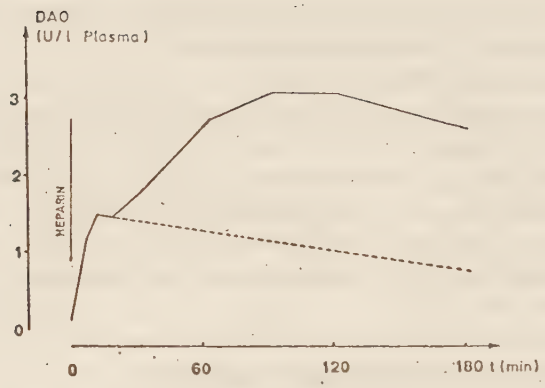



Abb. 1: PHD im Plasma ohne (ausgezogene Linie) und mit Hemmung des Lymphabflusses am angulus venosus (gestrichelte Linie).

durch weitere Untersuchungen belegt werden:

Nach KOBAYASHI et al. (25) entspricht dem dosisabhängigen Anstieg der Enzymaktivität im Blutplasma nach Heparingabe eine entsprechende Verminderung des Enzymgehaltes in der Leber sowie im Darm.

Weitere Untersuchungen von HANSSON zeigten, daß die dosisabhängige DAO-Freisetzung nach Heparin

- bezüglich der Dauer bis zum Anstieg, der Höhe und Dauer des Anstiegs bei verschiedenen untersuchten Wirbeltierarten unterschiedlich ist.
- anscheinend nicht durch eine Schwangerschaft beeinflußt wird.
- beim Menschen begleitet wird von einer Erniedrigung der basalen Magensäureproduktion.
- viele hundert Male schneller ausgeschieden wird als die durch Schwangerschaft erhöhte Blutplasma-DAO beim Menschen.

- sich von der Schwangerschafts-DAO durch eine veränderte Wanderungsgeschwindigkeit bei der Elektrophorese in Agarose-Gel auszeichnet.
- wesentlich schneller ausgeschieden wird, wenn sie transfundiert wurde (vgl. mit dem Abklingen nach Heparingabe).

Diese Untersuchungen zeigen, daß es sich offensichtlich um verschiedene Isoenzyme handeln muß.

Es konnte auch bewiesen werden, daß die DAO, die im Verlauf der POST HEPARIN DIAMINOOXIDASE-Kurve das erste Maximum verursacht, etwas anderer Natur ist wie die DAO, die das zweite Maximum verursacht. So fand man, daß durch Zugabe von EDTA-Natrium nur die erste Spitze zum Verschwinden gebracht werden konnte (16). Außerdem fand man verschiedene Aktivitätsmaxima für die beiden Peaks bei verschiedenen pH-Werten. Bei optimalen Bedingungen liegt allerdings der zweite Gipfel höher (16).

Auf welchem Wege Heparin die DAO freisetzen kann, ist bis jetzt noch nicht bekannt.

Die Freisetzung der DAO durch Heparin kann durch Zugabe von Protamin, einem auch bezüglich der gerinnungshemmenden Heparinwirkung spezifischen Antagonisten des Heparins, vollständig verhindert werden (16). Es wurde weiter gefunden, daß außer Protamin auch viele andere Polyanionen eine DAO-Freisetzung verursachen können (16).

## 4. IMMUNPATHOLOGISCHE REAKTIONSFORMEN

Art und Ausmaß immunologischer Reaktionen sind abhängig von der Art und Menge des jeweiligen Antigens, der Eintrittspforte in den Organismus, der Konzentration in den "immunologischen Organen" sowie vom aktuellen Funktionszustand des Immunsystems. Mangelhafte, fehlgerichtete, extrem gesteigerte oder nach erfolgter Antigenelimination nicht spontan abklingende Immunprozesse führen klinisch zu den verschiedensten Symptomen und Krankheitsbildern. Diese werden bei der Einordnung nach nachweisbaren pathologischen Immunphänomenen in das Schema der immunologischen Reaktionsformen nach GELL und COOMBS übersichtlicher und damit verständlicher (39).

| Immunreaktion | | Immunpathologische Krankheitsbilder | |
|---|---|---|---|
| Typ I:<br>AK:<br><br><br>A:<br>M: | Anaphylaktische Reaktion<br>IgE: sekundär zellständige Reagine" auf Mastzellen + Basophilen<br>exogen<br>Histamin, Serotonin, SRS-A | anaphylaktischer Schock<br>allergisches Asthma<br>allergische Rhinitis<br>Urtikaria | |
| Typ II:<br>AK:<br><br>A:<br><br>M: | Zytotoxische + zytolytische Reaktion<br>komplementaktivierende zirkulierende IgG- und IgM-Antikörper<br>exogen und endogen auf Zellmembranen<br>Komplement-Intermediärfaktoren und-komplexe | hämolytische Anämie<br>Leukozytopenie<br>Thrombozytopenie<br>Agranulozytose<br>Good-pasture-Syndrom | |
| Typ III:<br>AK:<br><br>A:<br><br>M: | Serumkrankheits- oder Arthus-Typ<br>präzipitierende komplementaktivierende IgG- und IgM-Antikörper<br>löslich exogen und endogen A-AK-Komplexe<br>Komplement-Intermediärfaktoren und -komplexe | Serumkrankheit<br>LED<br>fibrosierende Alveolitis<br>Periarthritis<br>Erythema modosum<br>akut und chron. GI.<br>Nephritis | Drogenfieber<br>DI-LE, PLE |
| Typ IV:<br><br>Immun-<br>zellen:<br>A:<br>M: | Zelluläre Reaktionen, Tuberkulin-Typ<br>zytotoxische T-Lymphozyten<br>K-lymphozyten<br>exogen und endogen<br>Lymphokinine | Kontaktekzem<br>Transplantatabstoßung<br>chron. Granulomatose<br>Infektion: Tbc, Lepra, Lues | <br><br><br><br>photoallerg. Ekzem |
| Typ V:<br>V a.<br><br>V b. | Anaphylaktoide Reaktionen<br>Nebenschlußaktivierung des Komplementsystems<br>direkte Mediatorfreisetzung | Quincke Ödem<br>Endotoxin-Schock<br>Insekten-Schlangengift<br>Mastozytose | |

Tabelle 1

Immunpathologische Reaktionsformen, bei denen dem Histamin als Mediatorsubstanz der Entzündung eine Bedeutung zukommt:

Wie aus der Tabelle ersichtlich, beruhen anaphylaktische Reaktionen (Typ I) auf der Wirkung von Histamin und anderen Mediatoren, die aus Mastzellen und Basophilen sekundär freigesetzt werden, wenn auf diesen Zellen fixierte IgE-Antikörper mit den korrespondierenden Antigenen reagieren.

Auch nach einer Aktivierung des Komplementsystems kommt es zu einer Freisetzung von Histamin, da die im Laufe der Aktivierungskaskade des Komplementsystems entstehenden Spaltprodukte (= Anaphylaktoxine $C_{3a}$ und $C_{5a}$) zu einer Histaminfreisetzung führen (siehe Abb. 2).

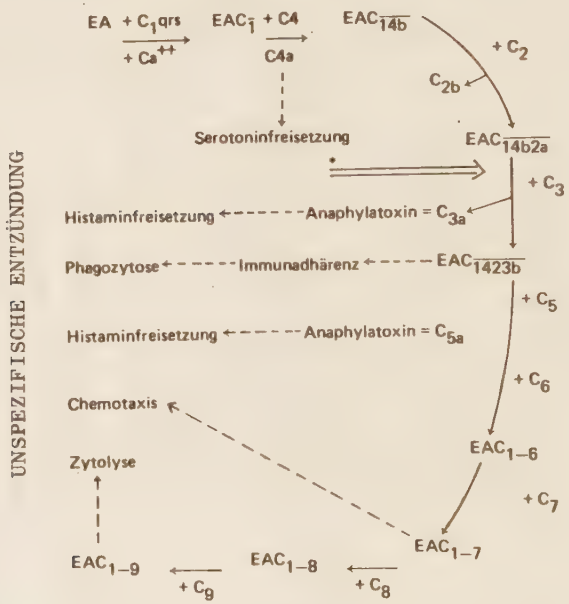



Abb. 2: Klassische Aktivierung des Komplementsystems, veranschaulicht am Modell der Immunhämolyse: EA = Antikörperbeladener Erythrozyt, $C_1$ - $C_9$ = Komplementfaktoren.

Wie in Tabelle 1 dargestellt, führt die Reaktion vom Typ II zur Aktivierung des Komplementsystems, wobei es dann letztendlich zu einer zytotoxischen oder zytolytischen Zerstörung der Antigen-tragenden Zellen kommt, da hier die auf Zellmembranen lokalisierten Antigene mit zirkulierenden Antikörpern der IgG-, IgA-, IgM- oder IgD-Klasse reagieren.

Auch beim Typ III des beschriebenen Schemas kommt es nach dem Entstehen von Immunkomplexen, zusammengesetzt aus präzipitierenden Antikörpern der gleichen Immunglobulinklassen mit zirkulierendem Antigen, und nach deren Ablagerung ebenfalls zu einer Aktivierung der Komplementkaskade, die hier aber erst am Ort der Ablagerung gewebsschädigende Vorgänge in Gang setzt.

Ergänzt werden müssen nun noch die anaphylaktoiden Reaktionen, bei denen es über eine Nebenschlußaktivierung des Komplementsystems (siehe Abb. 2) bzw. durch direkte Mediator-Freisetzung (z.B. toxische Mastzelldegranulation) ebenfalls zu einer Histamin-bedingten oder -unterstützten Reaktionsform kommt.

Dieser "alternative Weg der Komplementaktivierung" (Nebenschluß) mündet ebenfalls als Enzymkaskade bei $C_3$ in die oben erwähnte klassische Komplementaktivierung ein.

Die Nebenschlußaktivierung erfolgt durch nicht-immunologische Substanzen, die sich in Anwesenheit von $C_3$ mit Properdin verbinden.

Eine Aktivierung des Komplementsystems im Nebenschluß kann durch folgende Substanzen erfolgen:

- Zymosan (ein Hefeextrakt)
- Polysaccharide (Inulin, sulfatierte Dextrane)
- Lipopolysaccharide (Endotoxin, aus den Zellwänden gramnegativer Bakterien)
- Fab-Teile von aggregierten IgA-Antikörpern
- Fab-Teile von IgG-Antikörpern in Antigen-Antikörperkomplexen

- Nephritis Faktor (im Serum bei bestimmten chronischen Glomerulonephritis-Patienten)
- Kryopräzipitate

Somit stellt die Nebenschlußaktivierung des Komplementsystems im Rahmen der Entzündung ein unspezifisches Abwehrsystem dar, welches bereits vor der Phase der immunologisch bedingten (Antikörper und Immunzellen) Abwehr wirksam werden kann.

Die Nebenschlußaktivierung führt zu den gleichen Symptomen, die auch durch Antikörperreaktionen (Typ I, II und III) hervorgerufen werden. Eine klinische Diagnose der zugrundeliegenden immunpathologischen Reaktionen ist daher häufig nicht möglich.

## II. FRAGESTELLUNG

### 1. VERÄNDERUNGEN DES DAO-GEHALTES BEI VERSCHIEDENEN KRANKHEITSBILDERN

Aus früheren Arbeiten ist bekannt, daß der Diaminooxidasespiegel durch verschiedene Krankheiten verschieden verändert wird. So wurde dieses Enzym unter anderem im Zusammenhang mit dem allergischen Asthma (17) und bei einigen neoplastischen Erkrankungen wie beim kleinzelligen Bronchial-Carcinom (1) und beim C-Cell-Carcinom der Schilddrüse (2, 1) sowie bei der Hepatitis und bei der Zirrhose diskutiert (12, 13).

Beim C-Cell-Carcinom der Schilddrüse wurde gefunden, daß das Ausmaß der Aktivitätserhöhung der Histaminase einer Progredienz des Tumors parallel geht (2). Dies konnte bei den anderen Erkrankungen nicht festgestellt werden, so daß angenommen werden muß, daß es sich im Falle des C-Cell-Carcinoms der Schilddrüse um eine Neubildung der DAO im Rahmen eines bei diesem Tumor manchmal auftretenden paraneoplastischen Syndroms handelt, während die Veränderungen des DAO-Spiegels bei den anderen genannten Erkrankungen offensichtlich auf einer anderen Ebene erfolgen.

### 2. VERÄNDERUNGEN DES DAO-GEHALTES IM SERUM BEIM ANAPHYLAKTISCHEN SCHOCK

#### Positive Einflüsse der Heparingabe beim anaphylaktischen Schock im Tierexperiment

Bei der Anaphylaxie konnte im Tierversuch gezeigt werden, daß es in der Leber zu einer initialen Steigerung

und dann zu einer sekundären Abnahme der histaminolytischen Aktivität kommt (3). Beim Hund konnte man während des anaphylaktischen Schocks zeigen, daß wohl Heparin, aber nicht die DAO erhöht ist (15, 37). GIERTZ, HAHN und Mitarbeiter (15) konnten nach Auslösung eines anaphylaktischen Schocks beim Meerschweinchen einen Anstieg der Diaminooxidase im Blut dieser Tiere zeigen.

Aus der Humanmedizin liegt von HANSSON (19, 20) eine ähnliche Beobachtung vor, der nach einem anaphylaktischen Schock vom jungen Mann postmortal einen erheblichen Anstieg dieses Enzyms fand. SCHMUTZLER und Mitarbeiter (37) wiesen auf eine mögliche Schutzfunktion der im Plasma freigesetzten DAO gegenüber im Kreislauf zirkulierendem Histamin hin. Mit Heparin vorbehandelte Meerschweinchen überlebten den Histaminschock häufiger als nicht vorbehandelte Kontrolltiere. In diese Richtung wiesen auch Versuche von WERLE und SCHIRREN (47, 46, 48), die durch exogene Zufuhr von gereinigter DAO aus Erbsen die Überlebensrate von Meerschweinchen im anaphylaktischen Schock signifikant steigern konnten.

Heparin setzt bei parenteraler Applikation bedeutende Mengen DAO in den Kreislauf frei. Seine klinische Anwendung berücksichtigt jedoch ausschließlich die antithrombotische Wirksamkeit.

Untersuchungen über die Zusammenhänge zwischen Heparin, der DAO und dem Histaminstoffwechsel liegen unter klinischen Bedingungen nicht vor. Wegen der unklaren Rolle des Histamins bei Entzündungen und bei Erkrankungen mit zirkulierenden Immunkomplexen untersuchten wir deshalb das Verhalten der DAO nach Heparingabe bei solchen Erkrankungszuständen.

## III. M A T E R I A L

### Radiaktive Substanzen:

14 - C - Putrescin - dihydrochlorid s.A. 5 - 15 mCi/mM
Die Substanz wurde von der Firma NEN - Chemicals, Dreieichenhain bei Frankfurt a.M. bezogen.

| Chemische Substanzen: | Firmen: (falls nicht beschrieben, alle Substanzen von Fa. Merck) |
|---|---|
| Heparin (Liquemin$^{R}$) 5000 U/ml | Deutsche Hoffmann La Roche AG Grenzach/Baden |
| Protamin 100 (wäßrige Lösung) | Deutsche Hoffmann La Roche AG Grenzach/Baden |
| Szintillatorsubstanzen | Packard Instruments Frankfurt a.M. |
| POPOP-Szintillation Grade | Packard Instruments Frankfurt a.M. |

Puffer: Kaliumphosphatpuffer 0,1 M pH 7,4, hergestellt aus Di-Kaliumhydrogen-phosphat und Kalium-dihydrogenphosphat

### Lösungen:

Aqua dest.
Toluol Lösungsmittel für Szintillationsmessungen $C_7H_8$
Szintillatorherstellung die die DAO-Bestimmung:
PPO 3,5 g und POPOP 0,2 g pro Liter Tuoluol

### Laborgeräte:

pH-Meter
Inkubation im Wasserbad mit Thermostat und geeichtem Thermometer
Packard Liquid scintillation Spectrometer Mod. 3380 mit externem Standard 2 x 5 Min.
Eppendorf Photometer bei Hg 777 nm und 336 nm

## 1. KONTROLLGRUPPEN FÜR DAO UND PHD

Kontrollkollektiv für die DAO-Bestimmung:

basale Blutserumwerte der DAO bei gesunden Personen ($n$ = 19, Alter: 18 - 48 Jahre).
Ernsthafte Erkrankungen im Kontrollkollektiv wurden durch die Anamnese und die üblichen Labormethoden ausgeschlossen.

Kontrollkollektiv für die PHD-Bestimmung:

aus der oben genannten Personengruppe wurde bei 17 dieser Personen eine PHD-Studie durchgeführt (Alter: 22 - 48 Jahre).

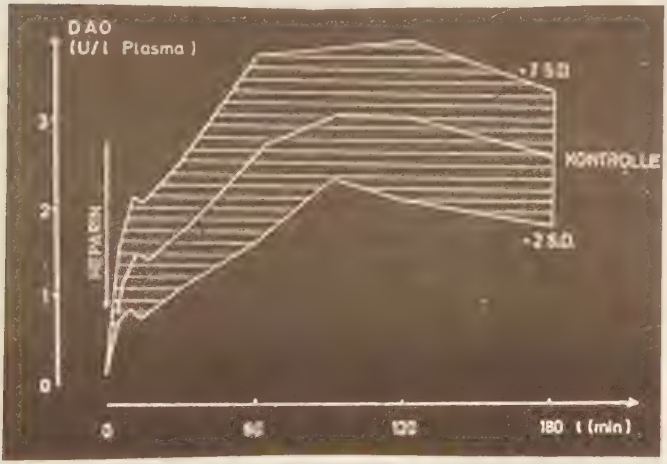



Abb. 3: Postheparin-Diaminoxidase im Plasma nach Gabe von 200 U Heparin/kg Körpergewicht.
Die Abbildung zeigt den Verlauf der PHD nach der i.v.-Gabe von 200 Einheiten Heparin/kg Körpergewicht über eine Zeit von 3 Stunden ($\bar{x} \pm 2$ SD).

Statistische Auswertung:

Die Errechnung von statistischen Daten erfolgte durch den WANG Kleincomputer, Modell 700 B; zur Programmierung wurde der t-Test nach Student (lineare Regression) verwandt.

Vergleich der Radiochemischen DAO-Bestimmung mit dem optischen Test (NADH-Test)

Die Eichung der Isotopenmethode nach OKUYAMA und KOBAYASHI ( 33 ) wurde durch Vergleich mit dem optischen Test nach WARBURG erreicht.

Dabei wurde ein angereichertes Enzympräparat verwendet. Arbeitsvorlage war die Versuchsanleitung nach KUSCHE u. Mitarb. ( 26 ). Die zugrundeliegenden Reaktionen verlaufen nach folgendem Prinzip:

$$\text{Putrescin} \xrightleftharpoons{\text{DAO}} \gamma\text{- Aminobutyraldehyd} + NH_3 + H_2O_2$$

$$NH_3 + \alpha\text{-Ketoglutarat} + \text{NADH} \xrightleftharpoons{\text{GLDH}} \text{Glutamat} + \text{NAD} + N_2O$$

Dabei wird der Ammoniak, der bei der durch die Diaminooxidase katalysierten Reaktion frei wird unter dem Einfluß von Glutamatdehydrogenase mit $\alpha$-Ketoglutarat zu Glutamat umgesetzt. Dabei wird NADH zu $NAD^+$ und $H^+$ oxidiert.

Verwendete Testlösungen:

Glutamat-Dehydrogenase (GLDH; 10 mg/ml) als Handelspräparat

reduziertes Nikotinamid-Adenin-Dinukleodit (ß-NADH; 5,7 mMol): 12,1 mg NADH-$Na_2$, gelöst in 3 ml 1 % $NaHCO_3$-Lösung.

Substratlösung (30 mMol Putrescin):
14,5 mg Putrescin-dihydrochlorid; gelöst in 3 ml Phosphatpuffer

## 2. BESTIMMUNGSMETHODEN UND VERSUCHSANSÄTZE

### Radiochemische Bestimmung der Diaminooxidase (DAO):

Wir bestimmten die DAO im Plasma nach der Methode von OKUYAMA und KOBAYASHI ( 33 ), modifiziert von TRYDING ( 42 ), wobei $^{14}$C-Putrescin als Substrat dient (Abb. 4).

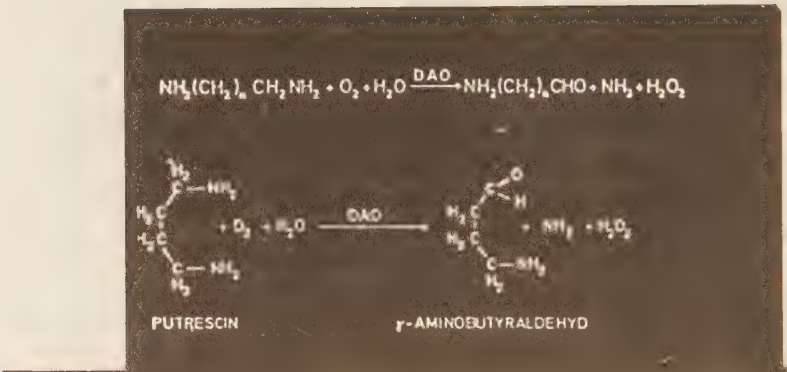
Ein Produkt dieser Reaktion ($\Delta^1$Pyrrolin) ist im Gegensatz zum Substrat toluollöslich. Dieses radioaktive Reaktionsprodukt kann in Toluol ausgeschüttelt werden und dient dann als Maß für die Enzymaktivität; dabei besteht eine zeitliche und mengenmäßige Korrelation der entstandenen Reaktionsprodukte mit der Enzymaktivität.

### Inkubationsansatz:

200 µl 1 M Kaliumphosphatpuffer pH 7,4
50 µl $^{14}$C-Putrescin 1,6 Ci/Mol
100 µl Plasma

Dieser Reaktionsansatz wird mit Aqua dest. auf 2 ml aufgefüllt und 1 Stunde bei 37°C im Wasserbad inkubiert.
Bei jedem Inkubationsansatz wurde eine Kontrolle mitgeführt, bei der anstelle des Plasmas Kaliumphosphatpuffer verwendet wurde.
Nach Ablauf der Inkubationszeit wird das Reaktionsgemisch 2 x mit je 10 ml Toluol, das 3,5 g PPO und 0,2 g POPOP/l enthält, ausgeschüttelt.
Die wäßrige Phase wird anschließend eingefroren, danach wird der Toluolüberstand abgekippt und im Szintillationszähler 2 x 5 Minuten gemessen.

Die Angaben in counts per minute werden dann in mU/ml umgerechnet.




**Methode**

DAO - Bestimmung nach OKUYAMA und KOBAYASHI, mod. nach KUSCHE

Substrat: $^{14}C$- Putrescin

Enzymbestimmung vor und nach i.v - Gabe von 200 E Heparin/kg KG

Blutabnahme bis zu 3 Stunden nach Heparingabe.

Abbildung 4

Phosphatpuffer (0,2 m, pH 7,6)

$Na_2HPO_4 \times 2H_2O$ und $KH_2PO_4$ x α-Ketoglutarat (171 mMol):
97,5 mg $Na_2$-α-Ketoglutarat; gelöst in
2 ml Wasser.

Zugabe von 1 N NaOH bis ein pH von 7,6 erreicht ist.
Auffüllen der Lösung bis zum Gesamtvolumen von 3 ml
mit Wasser.

Inkubationsansatz:

| | Volumen | Endkonzentration |
|---|---|---|
| Phosphatpuffer | 1,65 - 2,55 ml | ca. 0,2 M |
| GLDH | 0,05 ml | ca. 1,0 U/ml |
| α-Ketoglutarat | 0,10 ml | 5,7 mM |
| NADH | 0,10 ml | 0,19 mM |
| Enzym | 0,10 - 1,00 ml | |
| mischen und 10 Minuten bei 37°C inkubieren | | |
| Substrat | 0,10 ml | 1,0 mM |

mischen und mit dem Schreiber den Anstieg der Extinktion messen. Die NADH-Messung im Ultralab-System 8600 (Gerät der Fa. LKB, Bromma, Schweden bei einer Wellenlänge von $\lambda$ = 366 nm und 37°C).

| Diagnosen | Patienten n | P H D x ± SD |
|---|---|---|
| Anaphylaxie | 3 | 12 ± 3 |
| Arzneimittel-allergie | 5 | 25 ± 3 |
| Asthma bronchiale | 5 | 22 ± 10 |
| Akute Hepatitis | 15 | 23 ± 11 |
| Chron. Glomerulo-nephritis | 7 | 32 ± 18 |
| Chron. aggress. Hepatitis | 11 | 38 ± 27 |
| Colitis ulc. | 2 | 43 ± 23 |
| Lupus er. diss | 1 | 19 |
| Lupus er. renalis | 1 | 17 |
| M. Crohn | 6 | 29 ± 17 |
| M. Boeck | 4 | 25 ± 8 |
| Multiple Sklerose | 1 | 5 |
| Mumps | 2 | 25 ± 10 |
| Sklerodermie | 1 | 10 |

P H D (Postheparin- Diaminooxidase) bei allergischen Erkrankungen und Erkrankungen mit Immunkomplexen in % der Kontrollen

Abbildung 5

| DAO im Serum | DAO nach Heparingabe im Plasma |
|---|---|
| Normalpersonen: 40 mU/l | ca. 3,5 U/l |
| Patienten: | ca. 10 - 50 % der Kontrollen |

Abb. 5a

| Diagnose | Patienten n | Männer n | Frauen n | Alter Jahre |
|---|---|---|---|---|
| Anaphylaxie | 3 | 2 | 1 | 35 ± 7 |
| Arzneimittel-allergie | 5 | 2 | 3 | 44 ± 14 |
| Asthma bronchiale | 5 | 2 | 3 | 43 ± 22 |
| Akute Hepatitis | 15 | 11 | 4 | 30 ± 16 |
| Chron. Glomerulo-nephritis | 7 | 3 | 4 | 34 ± 15 |
| Chron. aggr. Hepatitis | 11 | 9 | 2 | 52 ± 8 |
| Colitis ulcerosa | 2 | 1 | 1 | 36 ± 20 |
| Lupus er. diss. | 1 | | 1 | 60 |
| Lupus er. renalis | 1 | | 1 | 63 |
| M. Crohn | 6 | 4 | 2 | 24 ± 7 |
| M. Boeck | 4 | 2 | 2 | 37 ± 14 |
| Multiple Sklerose | 1 | 1 | | 55 |
| Mumps | 2 | 2 | | 17 ± 2 |
| Sklerodermie | 1 | 1 | | 57 |

Zusammenstellung des untersuchten Krankengutes

Abb. 5b

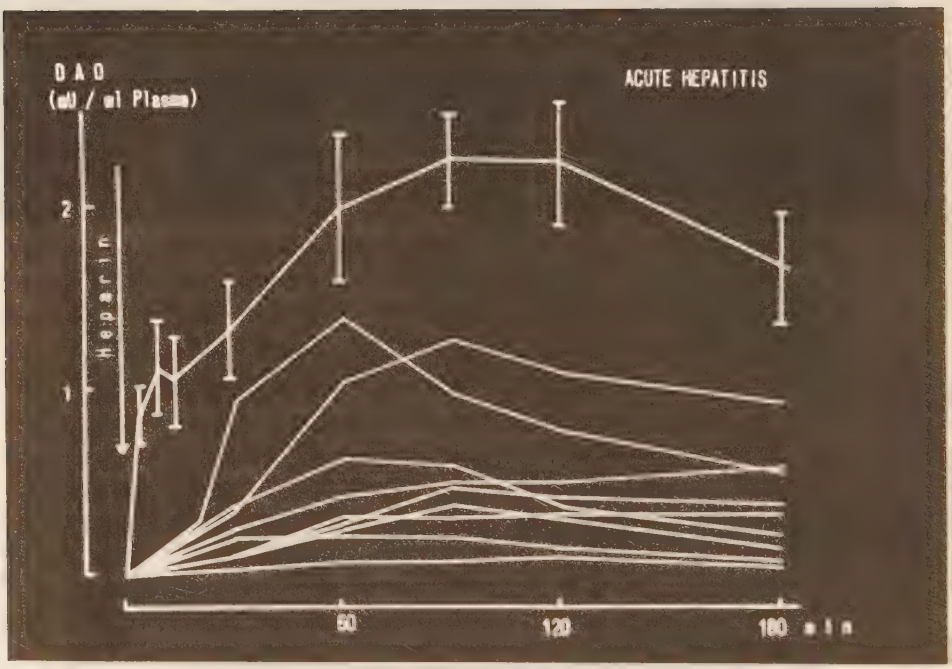



Abbildung 6

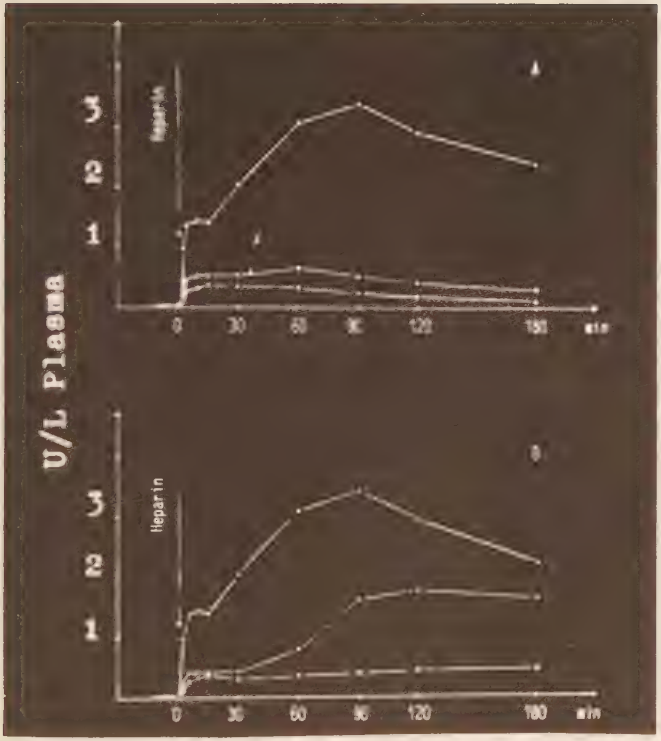



Abb. 7: Einfluß von Heparin i.v. (200 U/kg) auf die Plasma-Diaminooxidase bei zwei Patienten nach anaphylaktischem Schock, verglichen mit dem Mittelwertbild einer Kontrollgruppe von vier gesunden Freiwilligen. (x)
Die Enzym-Aktivität ist gegen die Zeit aufgetragen.
(A): Patient Nr. 1 (W.K.), drei Tage nach Erleben eines anaphylaktischen Schocks (Δ) und vier Wochen später (o).
(B): Patient Nr. 2 (J.R.), drei Tage nach Erleben eines anaphylaktischen Schocks (Δ) und sechs Monate später (o).

## IV. E R G E B N I S S E

Die Abbildung 5 zeigt die Postheparin-DAO-Bestimmungen, abgekürzt PHD, bei den untersuchten allergischen Erkrankungen. Der PHD-Wert ist in % der Kontrollgruppe angegeben, wobei jeweils die 90'-Werte miteinander in Relation gesetzt wurden. Wie die Abbildung zeigt, lag der Enzymanstieg nach Heparingabe bei den meisten Erkrankungen im Durchschnitt zwischen 10 und 40 % der Kontrollen.

Im folgenden wird das Enzymverhalten, bzw. dessen Zeitverläufe nach Heparingabe bei einigen Erkrankungen der vorherigen Tabelle ausführlicher gezeigt. Die nächste Abbildung 6 zeigt die PHD bei akuter Hepatitis. Während bei den Kontrollen ein rascher Enzymanstieg im Plasma bis auf etwa 3,5 U/l beobachtet wurde, war dieser bei der akuten Hepatitis deutlich geringer. Er lag im Durchschnitt bei 10 - 50 % der Kontrollen.

Die nächste Abbildung 7 zeigt das Enzymverhalten bei 2 Patienten nach einer schweren anaphylaktischen Reaktion. Im ersten Fall (obere Kurve, A) handelt es sich um einen 18-jährigen Patienten, der im Rahmen einer Lymphographie nach Gabe von 2 ml 11 %iges Patent-Blau einen anaphylaktischen Schock entwickelte. Die Postheparin-DAO wurde hier 3 Tage bzw. 4 Wochen nach dem Ereignis gemessen. Sie lag anfangs bei ca. 10 % der Kontrollen und stieg dann langsam wieder an. Dieser Patient zeigte im intradermalen Scratch-Test eine starke Reaktion gegen Patent-Blau bei einer Verdünnung von 1 : 100 000.

Im unteren Fall handelt es sich um einen 67-jährigen Patienten, der nach i.a. Gabe von Actihämyl einen schweren anaphylaktischen Schock erlitt. Die Postheparin-DAO wurde hier nach 3 Tagen gemessen sowie nach 6 Monaten erneut kontrolliert. Man sieht in diesem Falle einen

deutlichen Wiederanstieg des Enzyms. In % der Kontrollen ausgedrückt, erfolgte ein Enzymanstieg von 14 auf 40 %.

## INTERPRETATION UND MÖGLICHE KLINISCHE BEDEUTUNG DIESER BEFUNDE

Bei gesunden Probanden liegt der Serum-DAO-Spiegel ohne Heparinvorgabe bei 40 mU/l. Nach Heparingabe in therapeutischer Dosis steigt dieser, wie gezeigt, bis maximal 3,5 U/l an, also um etwa das hundertfache. Unter dem Gesichtspunkt des PHD-Anstieges ist in der Peripherie ein veränderter Histaminstoffwechsel zu erwarten, wie die Abbildung 8 zeigt. Die körpereigenen Mediatoren wie Histamin oder Serotonin steigern die venoläre Permeabilität und bewirken eine arterioläre Vasodilatation. Gewebeschädigungen rufen nach derzeitiger Vorstellung eine lokale Konstriktion der kleinen Venen hervor und eine Erweiterung der Venolen, in deren Folge sich eine Permeabilitätssteigerung, eine Stase und Hämokonzentration entwickeln.

Im Zusammenhang mit dem Histaminstoffwechsel soll des weiteren daran erinnert werden, daß Zirkulation und Hämostase eng miteinander verknüpft sind. Vor allem in der Endstrombahn sind die Vasomotorik, der Zellstoffwechsel und die Gerinnungsneigung des Blutes eng miteinander gekoppelt. Die pharmakologischen Effekte des Histamins sind bei der Anaphylaxie ebenso von Bedeutung wie bei der Anaphylaktoidie, wobei nach RAAB (34) sich letztlich bei jeder Form einer Entzündung eine anaphylaktoide Komponente mit nachfolgender Histaminliberierung nachweisen läßt.

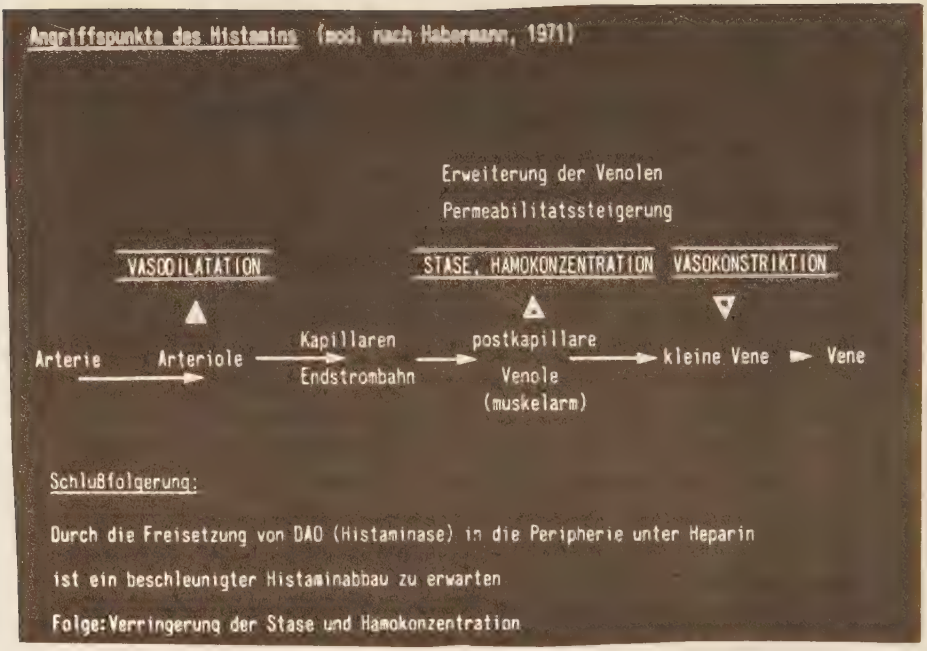

Angriffspunkte des Histamins (mod. nach Habermann, 1971)
Erweiterung der Venolen
Permeabilitätssteigerung
VASODILATATION
STASE, HÄMOKONZENTRATION
VASOKONSTRIKTION
Arterie
Arteriole
Kapillaren
Endstrombahn
postkapillare
Venole
(muskelarm)
kleine Vene
Vene
Schlußfolgerung:
Durch die Freisetzung von DAO (Histaminase) in die Peripherie unter Heparin
ist ein beschleunigter Histaminabbau zu erwarten
Folge:Verringerung der Stase und Hämokonzentration

Abbildung 8

Im Rahmen dieser Überlegungen reihen sich einige experimentelle und klinische Mitteilungen gut ein: CORRIGAN (8) untersuchte den Einfluß von Heparin auf die generalisierte Shwartzman-Reaktion beim Kaninchen. Er fand, daß Heparin, auch in Mengen, die die Gerinnung nicht hemmten, die Häufigkeit der Nierenrindennekrose vermindert.

SCHÜTTERLE und PLATT (38) konnten durch gleichzeitige Gabe von Heparin das Auftreten einer Masugi-Nephritis beim Kaninchen verhindern.

Schwedische Autoren wiesen unter Heparinbehandlung eine weitgehende Depression der experimentellen allergischen Enzephalomyelitis des Meerschweinchens nach (7).

DAHL (9) beschrieb 1964 die Beobachtung, daß bei einzelnen Asthmatikern die Asthmaanfälle durch Heparingabe erfolgreich kupiert werden konnten.

Wir selbst konnten bei einem 43-jährigen Patienten mit einer Urticaria 3 Stunden nach Gabe von 10 000 E Heparin sc. ein völliges Verschwinden sämtlicher Effloreszenzen beobachten. Nach weiteren 36 bis 48 Stunden traten diese allerdings erneut auf.

Die Beziehungen zwischen Heparin, der DAO und dem Histaminstoffwechsel haben bislang in klinische Überlegungen keinen weiteren Eingang gefunden. Wir halten es jedoch aufgrund des bisher Berichteten für angezeigt, bzw. stellen zur Diskussion, ob nicht zumindest bei den schwerwiegenderen Erkrankungen des allergischen Formenkreises wie z.B. Allergien auf Arzneimittel bis hin zu anaphylaktischen Reaktionen, der Bienenstichallergie und anderem ein Behandlungsversuch mit Heparin unternommen werden sollte; obwohl nur bei den immunpathologischen Reaktionsformen aufgrund des beschriebenen Pathomechanismus (siehe Tab. 1 und Abb. 2) ein Ansprechen dieser Therapie zu erwarten ist, bei dem Histamin freigesetzt wird, wäre in

jedem Fall einer schwerwiegenden immunpathologischen Reaktion ein Behandlungsversuch mit Heparin angezeigt, da der Nachweis des immunpathologischen Reaktionstypes zur Zeit sicherlich nicht genügend schnell und einfach durchführbar ist.

Es wäre evtl. sogar zu überlegen, ob nicht vor der Gabe von Medikamenten, bei denen relativ häufig allergische Zwischenfälle erwartet werden müssen, eine Vorbehandlung mit den relativ ungefährlichen Heparinoiden angezeigt ist.

## V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei den meisten untersuchten Erkrankungen lag der PHD-Anstieg zwischen 10 und 40 % der Kontrollen. Bei zwei Fällen von schweren anaphylaktischen Reaktionen konnte der initiale Abfall und der Wiederanstieg des Enzyms nach verschiedenen Zeiten beobachtet werden. Es stellte sich heraus, daß der Wiederanstieg der PHD - verglichen mit der Normalisierung üblicherweise untersuchter Entzündungsparameter - relativ langsam erfolgte.

Herrn Professor Dr.med. H.-A. Kühn danke ich herzlichst für die Übernahme des Korreferates sowie für die Arbeitsmöglichkeit in seiner Klinik.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.Doz. Dr.med. V. Gäng für die Überlassung des Themas und die stets sehr hilfreiche Unterstützung bei der Erstellung und Abfassung der Arbeit sowie die hervorragende Betreuung während der experimentellen Untersuchungen.

# L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S


1. BAYLIN, S.B.; BEAVEN, M.A.; KEISER, H.R.; TASHJIAN, A.H.; MELVIN, K.E.W.: Serum histaminase and calcitonin levels in medullary carcinoma of the thyroid. Lancet 1, 455 (1972)

2. BAYLIN, S.B.; BEAVEN, M.A.; BUJA, L.M.; KEISER, H.R.: Histaminase activity. A biochemical marker for medullary carcinoma of the thyroid. The American Journal of Medicine, Volume 53 (1972)

3. BERNAUER, W.; GIERTZ, H.; HAHN, F.; SCHMUTZLER, W.; SESEKE, G.; SIVERS, B.U.: Zum Mechanismus der Histaminasenaktivierung im anaphylaktischen Schock. Naturwissenschaften 34, 412 (1964)

4. BEST, zit. RICHTER, H.: Diaminooxidase im Dünndarm von Mensch, Hund und Kaninchen: Frage einer protektiven Rolle bei akuter intestinaler Ischämie. Habilitationsschrift, Marburg, S. 28 (1974)

5. BRANDAU, H.: Untersuchung der Schwangerschaft (Endokrinologische und enzymologische Überwachung). Med. Klin. 69, 1519 (1974)

6. CHARLSON, A.: On the sources of the histaminase present in thoracic duct lymph. Acta Physiol. Scand. 20, 5 (1950)

7. CHELMICKA - SZORC, E.; ARNASON, B.G.W.: Partial suppression of experimental allergic encephalomyelitis with heparin. Arch. Neurol. 27, 153 (1972)

8. CORRIGAN, J.J.: Effect of anticoagulating and non-anticoagulating concentrations of heparin on the generalized Schwarzman Reaction. Thrombos. Diathes. haemorrh. 22, 136 (1969)

9. DAHL, S.: The influence of heparin on allergic cutaneous tests for allergic asthma. Ann. Allergy 22, 303 (1964)

10. DANFORTH, D.N.; BORHAM, F.: Placental histaminase. Amer. J. Physiol. 119, 294 (1937)

11. DOENICKE, A., LORENZ, W.: Histaminfreisetzung und anaphylaktoide Reaktion bei i.v. Narkosen. Biochemische und klinische Aspekte. Anaesthesist 19, 413 (1970)

12. GÄNG, V.: Postheparin - Diaminooxidase (Histaminase) bei akuten und chronischen Lebererkrankungen.
Z. Gastroenterol. 12, 407 (1974)

13. GÄNG, V.; BALDUS, M.; KADEREIT, M.: Serum Level Changes of Endogenous and Postheparin Diamine Oxidase (Histaminase) in Clinical and Experimental Hepatitis.
Acta Hepato-Gastroenterol. 23, 104 (1976)

14. GESSLER, R.M.; MATSUBA, M.; DRAGSTEDT, C.A.: Observations on the histaminolytic activity of dog thoracic duct lymph.
J. Pharmacol. exp. Therap. 116, 356 (1956)

15. GIERTZ, H.; HAHN, F.; HAHN, H.; SCHMUTZLER, W.: Über den Plasmahistamingehalt bei der Meerschweinchenanaphylaxie.
Klin. Wschr. 40, 598 (1962)

16. GLANZMANN, Ch.E.; GLANZMANN, I.; ZAPEL: Histaminase Freisetzung beim Kaninchen durch Heparin, andere Polyanionen und Protamin.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 268, 434 (1971)

17. GUHA, T.; CHAKRAVARTI, H.S.; BASU, A.; LAHIRI, S.C.: Plasma histaminase levels in status asthmaticus.
Bull. Cal. School Trop. Med. 18, 37 (1970)

18. HABERMANN, E.R.: Gefäßaktive Peptide und Proteine. In: "Generalisierte intravaskuläre Gerinnung. Beeinflussung der Hämostase durch gefäßaktive Pharmaka".
Hrsg. L. Roka, F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York (1971)

19. HANSSON, R.; HOLMBERG, C.G.; TIBBLING, G.; TRYDING, N.; WESTLING, H.; WETTERQUIST, H.: Heparin-induced diamine oxidase increase in human blood plasma.
Acta med. Scand. 180, 533 (1966)

20. HANSSON, R.: Heparin-induced increase of diamine oxidase (histaminase) in blood and lymph.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 31, Suppl. 129 (1973)

21. KAPELLER - ADLER, R.: Amine oxidase and methods for their study.
Whiley-Interscience (1970) New York

22. KAPELLER - ADLER, R.: The isolation of Imidazole acetaldehyde as the ownly metabolite of the action in vitro of placental histaminase on histamin.
Biochem. Biophys. Acta 37, 527 (1960)

23. KOBAYASHI, Y.; IVY, A.C.: Histamine metabolizing activity of dog stomach and intestine.
Amer. J. Physiol. 195, 525 (1958)

24. KOBAYASHI, Y.; IVY, A.C.: Histamine metabolizing activity of the stomach and intestine of the rat.
Amer. J. Physiol. 196, 835 (1959)

25. KOBAYASHI, Y.; MAUDSLEY, P.V.: Release of diamine oxidase by heparin in the rat.
Biochem. Pharmacol. 18, 1585 (1969)

26. KUSCHE, J.; RICHTER, H.; SCHMIDT, J.; HESTERBERG, R.; LORENZ, W.: Intestinal diamine oxidase. Isolation, substrate specifity and pathophysiological significance.
Agents and Action 3, 183 (1973)

27. KUSCHE, J.; RICHTER, H.; HESTERBERG, R.; SCHMIDT, J.; LORENZ, W.: Comparison of the 14-C-Putrescine Assay with the NADH-Test for the Determination of Diamine Oxidase Description of a Standard Procedure with a High Precision and on Improved Accuracy.
Agents and Actions Vo. 3/3 (1973)

28. LINDELL, S.E.: Effects of histaminase inhibitors on the blood pressure responses in dogs to histamine injected into the renal artery.
Acta Physiol. Scand. 41, 168 (1957)

29. LORENZ, W.; DOENICKE, A.; FREUND, M.; SCHMAL, A.; DORMANN, P.; PRAETORIUS, B.; SCHÜRK-BULICH, M.: Plasmahistaminspiegel beim Menschen nach rascher Infusion von Hydroxyaethylstärke: Ein Beitrag zur Frage allergischer oder anaphylaktoider Reaktionen nach Gabe eines neuen Plasmasubstituts.
Anaesthesist 24, 228 (1975)

30. LORENZ, W.; KUSCHE, J.; WERLE, E.: In: Bergmeyer, H.U.: Diaminooxidase. Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie, Weinheim, 630 (1970)

31. MAJNO, G.; PALADE, G.E.: Studies on inflammation. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: an electron microscopic study.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 11, 571 (1961)

32. MONDOVI, B.; ROTILIO, G.; FINAZZI, A.; SCIOSCIA-SANTORO, A.: Purification of pig-kidney diamine oxidase and its identity with histaminase.
Biochem. J. 91, 408 (1967)

33. OKUYAMA, T.; KOBAYASHI, Y.: Determination of Diamine oxidase activity by liquid scintillation Counting.
Arch. Biochem. 95, 242 (1961)

34. RAAB, W.: Klinische Biochemie des Schocks.
G. Fischer, Stuttgart (1975)

35. RICHTER, H.: DAO in Dünndarm von Mensch, Hund und Katze.
Habil.schrift (1974) Marburg

36. SCHAYER, R.W.: Catabolism of histamine in vivo.
Handbook of experimental pharmacology 18, 672 (1966)

37. SCHMUTZLER, W.: Das Verhalten der Histaminase, Diaminooxydase und Benzylaminoxydase im Blutplasma von Meerschweinchen und Mensch nach intravenöser Injektion von Heparin.
Klin. Wschr. 46, 953 (1968)

38. SCHÜTTERLE, G.; PLATT, D.: Die Beeinflussung der experimentellen Glomerulonephritis durch Heparin und Prednisolon.
Klin. Wschr. 48, 179 (1970)

39. SCHWARZ, I.A.: Immunologisch bedingte unerwünschte Arzneimittelwirkungen.
Klinikarzt 7, 970-974 (1978)

40. SEIDEL, G.; GROPPE, G.; MEYER-BURGDORFF, C.: Contrast media as histamine liberators in man.
Agents and Actions 4, 143 (1974)

41. SHORE, P.A.; COHN, V.H.: Comparative effects of monoamine oxidase inhibitors of monoamine oxidase and diamine oxidase.
Biochem. Pharmacol. 5, 91 (1960)

42. TRYDING, N.; WILLERT, B.: Determination of plasma diamine oxidase (histaminase) in clinical practice.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 22, 29 (1968)

43. TRYDING, N.: Micromethod for the determination of plasma diamine oxidase.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 17, suppl. 86, 196 (1965)

44. URBASCHECK, B.; URBASCHECK, R.: Some aspects of the effects of endotoxin, endotoxoid and biogenic amines. In: "Gram-Negative Bacterial Infections".
Hrsg. B. Urbascheck, R. Urbascheck and E. Neter.
Springer Verlag, Wien, New York (1975)

45. WATON, N.G.: Studies on mammalian histidin decarboxylase.
Brit. J. Pharmacol. 11, 119 (1956)

46. WERLE, E.: Über das Vorkommen von Diaminooxidase und Histidindecarboxylase in Mikroorganismen.
Biochem. Z. 309, 61 (1941)

47. WERLE, E.: Aminooxidase. In: Handbuch der physiologischen und pathologisch - chemischen Analyse, 653 (1964)

48. WERLE, E.; v. PECHMANN, E.: Über die Diaminooxidase der Pflanzen und ihre adaptive Bildung durch Bakterien.
Justus Liebigs Ann. Chem. 562, 44 (1949)

49. WISSENSCHAFTLICHE TABELLEN.
7. Auflage, J.R. Geigy (Hrsg.), Basel (1968)

50. ZELLER, A.E.: Über den enzymatischen Abbau von Histamin und Diaminen.
Helv. chim. Acta 21, 880 (1938)

51. ZELLER, A.E.: Oxidation of amines.
Academic Press. Inc. New York 1, 536 (1951)

52. ZELLER, A.E.: Diamine oxidases.
The enzymes 2nd ed. 8, 313 (1963)

53. ZELLER, A.E.; FOUTS, J.R.; CARBON, J.A.; LAZONAS, J.C.; VOEGTLI, W.: Über die Substratspezifität der Diaminooxidase.
Helv. chim. Acta 39, 1632 (1956)

54. ZELLER, A.E.; PARSKY, I.; BERGMANN, E.P.; CHERKAS, M.S.; FOUTS, J.R.: Degradation of mescaline by amino-oxidases.
J. Pharmacol. 124, 282 (1958)

# L e b e n s l a u f

| | |
|---|---|
| Name: | Wolfgang G a u b i t z |
| geb. am: | 11.04.1950 |
| in: | Nürnberg |
| Eltern: | Ing. Leonhard Gaubitz<br>Elise Gaubitz |
| Schule und Ausbildung: | Volksschule: 1956 - 1960 in Uehlfeld/Ufr. |
| | 1960 - 1969 am Friedrich-Alexander-Gymnasium in Neustadt/Aisch |
| | 1969 - 1971 Dienst bei der Bundeswehr (Ausbildung als Sanitäter) |
| | Hochschule: Bayerische Julius-Maximilians-Universität in Würzburg |
| | Prüfungen: naturwissenschaftliche Prüfung<br>ärztliche Vorprüfung<br>Staatsexamen 1976 |
| | Med.-Assistentenzeit: |
| | 01.02.1977 - 30.03.1977 Abteilung für Nuklearmedizin der Universität Würzburg |
| | 15.04.1977 - 30.08.1977 Kreiskrankenhaus Kösching, Chir. Abteilung |
| | 01.10.1977 - 10.01.1978 Med. Klinik der Universität Erlangen |
| | 13.01.1978 - 22.03.1978 Abteilung für Nuklearmedizin der Universität Würzburg |

| | |
|---|---|
| Approbation als Arzt: | 22.3.1978 |
| 23.03.1978 - 31.03.1979 | Assistenzarzt<br>Abteilung für Nuklear-<br>medizin der Universität<br>Würzburg |
| 01.08.1979 - 15.11.1979 | Krankenhaus Uffenheim,<br>Chir. Abteilung |
| 16.11.1979 - 10.04.1980 | Vertretertätigkeit |

Am 10.4.1980 Niederlassung als praktischer Arzt
in 8531 Uehlfeld.

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80